

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-235544

(43)Date of publication of application : 26.08.2003

(51)Int.Cl.

C12N 1/00

C12M 1/00

(21)Application number : 2002-042510

(71)Applicant : HITACHI LTD

(22)Date of filing : 20.02.2002

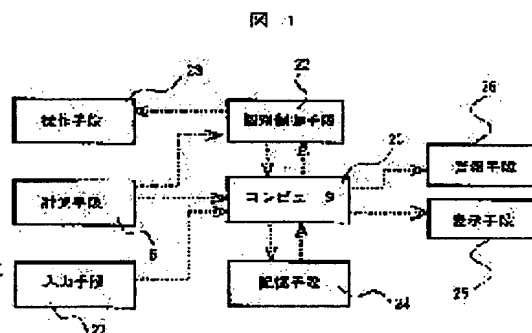
(72)Inventor : HAGA RYOICHI  
NANBA MASARU  
AMANO KEN

(54) METHOD FOR CONTROLLING CULTURE OF BIOLOGICAL CELL, CONTROL DEVICE FOR CONTROLLING CULTURE APPARATUS AND CULTURE APPARATUS

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To properly change a desired value of an operating state, if needed, in a proper environment in culture for culturing biological cells.

SOLUTION: In controlling the culture of the biological cells by a culture apparatus, the control is carried out to coincide a detected value of the operation state of the culture apparatus with a predetermined desired value and change the desired value by comparing an analytical value obtained by analyzing a sample of a culture solution harvested from the culture apparatus with the detected value. The desired value of the operation state is, if needed, properly changed in the proper environment in culture.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

22.10.2003

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's

decision of rejection]

[Date of extinction of right]

\* NOTICES \*

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.

3.In the drawings, any words are not translated.

---

## CLAIMS

---

[Claim(s)]

[Claim 1] The culture control approach of the living body cell containing the second step which changes this desired value based on the analysis value which is the culture control approach of a living body cell of cultivating a living body cell with a culture apparatus, and analyzed and obtained the culture-medium sample extracted from the first step which controls so that the measurement value which measured the operational status of said culture apparatus is in agreement with the desired value set up beforehand, and said measurement value and said culture apparatus.

[Claim 2] The first step which controls so that the measurement value from the operational status measurement means formed in said culture apparatus is in agreement with the desired value set up beforehand in the control approach of a culture apparatus of cultivating a living body's cell, The culture control approach of the living body cell characterized by controlling by the second two step of a step which verifies the validity of said desired value using the analysis value which analyzed and obtained the culture medium sample extracted from said measurement value and said culture apparatus, and changes this desired value.

[Claim 3] In the culture control approach of a living body cell according to claim 2, the measurement means formed in said culture apparatus It is any one or more of culture medium turbidity, pH, dissolved oxygen concentration, temperature, an agitating speed, quantity of airflow, the amount of air supply, the oxygen gas amount of supply, the carbon-dioxide-gas amount of supply, nitrogen gas supply volume, the oxygen density in impregnation gas, the oxygen density in an exhaust gas, and the alkali amount of supply, The culture control approach of a living body cell that the analysis value which analyzed and obtained the culture medium sample extracted from the culture apparatus is characterized by being any one or more of cell concentration, the rate of cell survival, glucose concentration, lactic-acid concentration, ammonia concentration, glutamine concentration, and the purpose product concentration.

[Claim 4] The control unit of the culture apparatus equipped with the second control means which changes this desired value based on the analysis value which is the control unit of the culture apparatus of the living body cell which cultivates a living body cell with a culture apparatus, and analyzed and obtained the culture medium sample extracted from the first control means which controls so that the measurement value which measured the operational status of said culture apparatus is in agreement with the desired value set up beforehand, and said measurement value and said culture apparatus.

[Claim 5] A means to incorporate the measurement value from the measurement means formed in said culture apparatus in the control unit of the culture apparatus which cultivates a living body's cell, The control means which controls in agreement with the desired value beforehand set up using this measurement value, A means to input the analysis value which analyzed and obtained the culture medium sample extracted from said culture apparatus, The computer for verifying validity of said desired value, and the storage means for storing the culture data of said living body's cell and a verification process, and a result as a database, The first control means

which performs culture control for the purpose of the desired value beforehand set up using the measurement value from the measurement means which possessed the display means for displaying a result as a verification process, and was formed in said culture apparatus, The validity of said desired value is verified using said measurement value and said analysis value. This verification process and a result, It compares with the last verification process stored in said database, a result, and the past culture data. The control unit of a culture apparatus which is equipped with the second control means which verifies the validity of said desired value, changes this desired value in being required, and outputs an abnormality alarm in being required, and is characterized by controlling by this first and the second control means.

[Claim 6] It is the control device of the culture apparatus characterized by having constituted so that said display means might combine the culture progress the past culture data, current culture data, and the future are expected to be in the control device of a culture apparatus according to claim 5 and it might display, and constituting so that it may warn of this, when the culture progress expected current and in the future separates from the past culture data.

[Claim 7] A means to incorporate the measurement value from the measurement means formed in said culture apparatus in the culture apparatus which cultivates a living body's cell, The control means which controls in agreement with the desired value beforehand set up using this measurement value, A means to input the analysis value which analyzed and obtained the culture medium sample extracted from said culture apparatus, The computer for verifying validity of said desired value, and the storage means for storing the culture data of said living body's cell and a verification process, and a result as a database, The first control means which performs culture control for the purpose of the desired value beforehand set up using the measurement value from the measurement means which possessed the display means for displaying a result as a verification process, and was formed in said culture apparatus, The validity of said desired value is verified using said measurement value and said analysis value. This verification process and a result, It compares with the last verification process stored in said database, a result, and the past culture data. The culture apparatus characterized by having had the second control means which verifies the validity of said desired value, changes this desired value in being required, and outputs an abnormality alarm in being required, and having the control unit which controls by two steps, this first and the second control means.

[Claim 8] It is the culture apparatus characterized by to have constituted so that said display means might combine the culture progress the past culture data, current culture data, and the future are expected to be in a culture apparatus according to claim 7 and it might display, and to constitute so that it may warn with an emphasis means to warn of this when the culture progress expected current and in the future separates from the past culture data.

---

[Translation done.]

**\* NOTICES \***

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

---

**DETAILED DESCRIPTION**

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention relates to a culture apparatus at the culture control approach of a living body cell, and the control unit list of a culture apparatus.

[0002]

[Description of the Prior Art] When cultivating a living body's cell, maintaining the inside of a culture environment, i.e., a cultivation tank, on the optimal conditions for culture is called for. For this reason, maintaining dissolved oxygen concentration, pH, temperature, an agitating speed, etc. to optimal conditions is performed.

[0003] There is JP,60-18390,B (patent No. 1552563) as an approach of controlling dissolved oxygen concentration. This is the approach of installing the sensor which measures dissolved oxygen concentration in a cultivation tank, and controlling the service condition of a cultivation tank according to the indicated value.

[0004] Moreover, there is JP,58-81781,A as an approach of controlling pH. This is the approach of adjusting pH of culture medium, by changing the carbon-dioxide-gas concentration of the cultivation tank gaseous-phase section.

[0005] Moreover, there is JP,5-30962,A as an approach of controlling an agitating speed. This is the approach of adjusting [ which forms the sensor which measures the viscosity of culture medium in a cultivation tank, computes shearing stress from the indicated value and rotational speed, and does not come to destroy a living body's cell ] an agitating speed in the range of shearing stress.

[0006] Such conventional technique was not what controls to satisfy the desired value set up beforehand and is controlled corresponding to a culture situation.

[0007] There is JP,5-240673,A as an approach of judging the abnormalities of a culture situation. This is the approach of computing the amount of relative bias to the certified value of the indicated value of the detection means formed in the cultivation tank, and calculating and judging a normality and whenever [ abnormality / of culture ] by the fuzzy reasoning operation.

[0008] By such conventional technique, it does not judge by corresponding to the culture situation of judging the existence of the abnormalities of culture based on the certified value in the normal culture condition inputted beforehand, and changing to it every moment, exactly.

[0009]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] A culture situation changes every moment and may also have generating of the situation that that by which the concentration of the living body cell in early stages of culture was controlled by the low situation good cannot maintain a target culture environment when the concentration of a living body cell increases by culture. In the usual culture apparatus, though it is rare to install many measurement means and the unsuitable culture environment exists in a cultivation tank, this is undetectable. Moreover, there is also culture with indispensable modification of a control-objectives value with advance of culture.

[0010] The purpose of this invention cultivates verifying that the suitable culture environment for culture of a living body cell can be maintaining certainly, and is to provide with a culture apparatus the culture control approach of a living body cell that desired value can be changed appropriately if needed, and the control unit list of a culture apparatus.

[0011]

[Means for Solving the Problem] This invention controls so that the measurement value which is culture control of the living body cell which cultivates a living body cell with a culture apparatus, and measured the operational status of said culture apparatus is in agreement with the desired value set up beforehand, and it is characterized by changing this desired value based on the analysis value which analyzed and obtained the culture medium sample extracted from said measurement value and said culture apparatus.

[0012]

[Embodiment of the Invention] The gestalt of operation of this invention is explained to a detail below using a drawing. Drawing 1 is the block diagram showing the control approach of a culture apparatus of cultivating a living body's cell.

[0013] The control approach by the gestalt of operation of this invention controls so that the measurement value which is culture control of the living body cell which cultivates a living body cell with a culture apparatus, and measured the operational status of said culture apparatus is in

agreement with the desired value set up beforehand, and it changes this desired value based on the analysis value which analyzed and obtained the culture-medium sample extracted from said measurement value and said culture apparatus.

[0014] The individual control means 22 controls the 1st step which performs control action autonomously so that it may be completed as a control-objectives value by each measurement value by comparing the desired value set up beforehand with the measurement value obtained from the measurement means 6 formed in the cultivation tank, transmitting an actuating signal to the actuation means 28, and changing a control input.

[0015] It does not limit especially as an individual control means 22, and what makes a controlled variable pH, dissolved oxygen concentration, temperature, etc. is used. In addition, when the cell of the living body which cultivates is an animal cell, the actuation means of an individual control means 22 by which a controlled variable is pH are a carbon-dioxide-gas supply valve and a pump, and control inputs are the carbon-dioxide-gas amount of supply and an alkali injection rate, respectively. The actuation means of an individual control means 22 by which a controlled variable is dissolved oxygen concentration are an oxygen supply valve and a nitrogen supply valve, and each actuation factor is an oxygen supply and the nitrogen amount of supply. the actuation means of an individual control means 22 by which a controlled variable is temperature – warming – it is the \*\* heater current controller or a steamy supply valve, and a cooling water supply valve, and an actuation factor makes a control input the amount of supply voltages or the steamy amount of supply, and the cooling water amount of supply to a heater. What is necessary is not to limit especially about the individual control means 22, and just to use the well-known feedback control technique, such as a proportional control method and a PID-control method. In addition, it is desirable that a setup and modification of each control-objectives value can carry out by computer 23.

[0016] A computer 23 verifies the validity of said desired value using the analysis value inputted from the measurement value and the input means 27 from the measurement means 6. While verifying the validity of said desired value and displaying on the display means 25 as compared with the last verification process stored in the storage means 24, a result, and the past culture data The 2nd step which changes this desired value in being required, and outputs an abnormality alarm with the alarm means 26 in being required is controlled. A computer 23 performs actuation of the following \*\* – \*\*.

[0017] \*\* Calculate using the analysis value inputted from the measurement value and the input means 27 from the measurement means 6, and compute calculation of a culture evaluation factor, and the forecast of several hours – several days after.

[0018] \*\* The analysis value inputted from the measurement value and the input means 27 from the measurement means 6 judges whether the result of an operation of whether it is an appropriate numeric value and \*\* is in the tolerance of the last forecast in the present culture situation. When it is in tolerance, it progresses to \*\*. When it is outside tolerance, it progresses to \*\*.

[0019] The result of an operation of \*\*\*\* judges whether it is in the tolerance of the database saved for the storage means 24. When it is in tolerance, it progresses to \*\*. When it is outside tolerance, it indicates that an abnormal condition has culture with the display means 25 and the alarm means 26, and it progresses to \*\*.

[0020] \*\* Compare a present culture situation and a present database and modification of a control-objectives value judges whether it is the need. That is, when carried out by addition of the case where rearranged gene expression control is performed by temperature, pH, dissolved oxygen, and shearing stress, or a manifestation inducer, it judges whether it is the stage when the present culture situation should carry out gene expression actuation. When it judges with there being no need, it progresses to \*\*. When it judges with modification being required, it progresses to \*\*.

[0021] \*\* Calculate the material balance within a cultivation tank with the present control-objectives value, and judge the existence of the existence of an unsuitable environment in a cultivation tank. When it is judged that there is existence of an unsuitable environment, it progresses to \*\*. When judged with there being nothing, return and control of the 2nd of a step

are repeated to \*\*.

[0022] \*\* Determine the controlling factor which should be changed, and its control-objectives value candidate value.

[0023] \*\* Calculate the material balance within a cultivation tank using a control-objectives value candidate value, and judge the existence of an unsuitable milieu therapy in a cultivation tank. When it is judged that an unsuitable environment is formed, return and a new control-objectives value candidate value are determined as \*\*. An unsuitable environment progresses to \*\*, when it judges with not being formed.

[0024] \*\* Change a setup of the control-objectives value of an individual control means. \*\* Repeat a series of control action of the 2nd step until the command of return and termination is issued. In addition, from a viewpoint of reservation of safety, it is desirable in the ability to be [ it faces changing desired value, and ] made for modification of a control-objectives value not to do, if it is not after completing the actuation which checks a modification qualification person's presence to which the operation authority of desired value modification registered beforehand was given, and the actuation which checks this modification qualification person's desired value modification license.

[0025] Although it does not limit especially as a culture evaluation factor, other factors are added if needed using a specific growth rate, a survival rate, the rate of substrate, a product production rate, an oxygen consumption coefficient, a carbon-dioxide-gas generation rate, etc. What is necessary is not to limit especially as an approach of predicting several several hour [ of culture ] - day back, and just to use the approach of computing using the empirical formula which approximated the effect of pH, temperature, an oxygen consumption coefficient, substrate concentration, etc. with the multiplex analysis method about the past culture data etc. It cannot limit especially as the technique of calculating the material balance within a cultivation tank, and the approach of analyzing by the hydrodynamic technique using the turbulent flow model using the turbulence energy dissipation rate epsilon of the flow in a tub etc. can be used.

[0026] As mentioned above, according to the control approach by the gestalt of operation of this invention, it becomes possible to cultivate verifying that desired value can be changed appropriately and the suitable culture environment for culture can be maintaining certainly corresponding to the culture situation of changing every moment, and safe and positive culture is attained.

[0027] Drawing 2 is a flow Fig. explaining actuation of one example of the control unit by the gestalt of operation of this invention. Control operation which dissolved oxygen concentration, pH, and the measurement means of temperature are installed in the culture apparatus of a controlled system, the individual control means 22 is established for every means in order to make it converge on the control-objectives value beforehand defined based on each measurement value, and became independent, respectively is carried out. In addition, the measurement means indicated to drawing 2 shows as an example any one of the measurement means installed in the culture apparatus, and the flow of drawing 2 is performed in independent for every measurement means. Moreover, as a measurement means, it is not limited to the aforementioned means, and other means, such as culture medium turbidity, may be added.

[0028] Control is started by inputting the signal of culture initiation. Actuation of each step of flows of control is explained below.

[0029] S11: Obtain each measurement value with the dissolved oxygen concentration installed in the culture apparatus, pH, and the measurement means of temperature.

[0030] S12: Judge whether it is in agreement with the control-objectives value to which each measurement value was set beforehand in an individual control means. When in agreement, it returns to S11. When not in agreement, it progresses to S13.

[0031] S13: In S12, when it is judged that it is not in agreement with a control-objectives value, transmit an actuating signal to an actuation means in each individual control means, and change a control input so that it may converge on a control-objectives value. It cannot limit especially as the control technique in each individual control means, and well-known technique, such as the ON/OFF controlling method, a proportional control method, and a PID-control method, can be used. It returns to S11 after modification. In addition, the following are used as a control input in

each control means.

[0032] pH: The injection rate of the change in the carbon-dioxide-gas amount of supply in aeration gas and an acidic solution, or an alkaline solution.

[0033] Dissolved oxygen concentration: The change in the oxygen supply in aeration gas, the change in a culture medium agitating speed, the change in a cultivation tank pressure.

[0034] Temperature: The change in whenever [ jacket supply water temperature ], the change in a cooling water speed of supply, the change in the amount for heating of electric heater supply voltages, or the change in the steamy amount of supply for heating.

[0035] Actuation S11-S13 is repeatedly performed until a termination instruction is emitted.

Although the period of iteration is suitably determined based on the property of the living body cell to cultivate, and the dynamic characteristics of a culture apparatus, it carries out in the range for 1 second - 10 minutes in general.

[0036] S21: Extract the culture medium of a living body cell in sterile from a culture apparatus. Especially the technique of extraction is not limited, and an operator may extract it manually or it may use automatic extraction equipment.

[0037] S22: Perform analysis required about the culture medium sample extracted by S21.

Although it is desirable to carry out the concentration of the concentration of the glucose which are cell concentration, a rate of cell survival, and the substrate matter as an analysis item, and a glutamine, the lactic acid which is a metabolite, ammonia, lactate dehydrogenase, and the purpose product, and any one or more \*\*, it does not limit to especially these.

[0038] S23: Input into a computer the analysis value acquired by S22.

[0039] S24: When operating S21, download the measurement data of S11 to a computer.

[0040] S25: Calculate based on the analytical data inputted by the measurement data incorporated by S24, and S23, and compute calculation of a culture evaluation factor, and the forecast of several hours - several days after.

[0041] S26: Verify whether culture is performed normally based on the analysis result of S25:

That is, a measurement value and an analysis value judge whether the result of an operation of whether it is an appropriate numeric value and S25 is in the tolerance of the last forecast in the present culture situation. When it is in tolerance, it progresses to S29. When it is outside tolerance, it progresses to S27.

[0042] S27: The result of an operation of S25 judges whether it is in the tolerance in the database which consisted of past culture data. Drawing 3 shows an example of the display screen showing the result of an operation of S25 about the total cell concentration and viable cell concentration, and the relation of the past culture data. The field across which it faced by the upper limit 43 and the lower limit 44 is tolerance. In this example of a display, since the point 41 passing [ culture ] and a forecast 42 are in tolerance, it is judged that culture is performed good. In addition, tolerance is computed based on the culture data of the past judged to have been carried out normally. In this example, it determined as a field where 80% of a database is contained. When it is in tolerance, it progresses to S29. When it is outside tolerance, it progresses to S28.

[0043] S28: Display the abnormality alarm which notifies of the present culture situation being unusual. It progresses to S29.

[0044] S29: Compare a present culture situation and a present database and modification of a control-objectives value judges whether it is the need. When it judges with there being no need, it progresses to S30. When it judges with modification being required, it progresses to S31.

[0045] S30: Calculate the material balance within a cultivation tank with the present control-objectives value, and judge the existence of the existence of an unsuitable environment in a cultivation tank. When it is judged that there is existence of an unsuitable environment, it progresses to S31. When judged with there being nothing, control of return and the 2nd step is repeated to S21.

[0046] S31: Determine the controlling factor which should be changed, and its control-objectives value candidate value.

[0047] S32: Calculate the material balance within a cultivation tank using a control-objectives value candidate value, and judge the existence of an unsuitable milieu therapy in a cultivation

tank. When it is judged that an unsuitable environment is formed, return and a new control-objectives value candidate value are determined as S31. An unsuitable environment progresses to S35, when it judges with not being formed.

[0048] S35: Change the control-objectives value of an individual control means into the above-mentioned desired value candidate value. A series of control action of the 2nd step is repeated until the command of return and termination is taken out to S21.

[0049] According to the control unit of the gestalt of this operation, it becomes possible to cultivate verifying that desired value can be changed appropriately and the suitable culture environment for culture can be maintaining certainly corresponding to the culture situation of changing every moment, and safe and positive culture can be carried out.

[0050] Drawing 4 is a flow Fig. explaining actuation of other examples of the control unit by the gestalt of operation of this invention. Drawing 5 shows one example of the culture apparatus for cultivating the animal cell by the gestalt of operation of this invention.

[0051] Main culture equipment consists of a cultivation tank 1 and a control unit 21. Moreover, although not illustrated in drawing 1, gas distribution plants, such as air and oxygen indispensable to a culture facility, nitrogen, and carbon dioxide gas, warm water cold-water supply equipment, steamy supply equipment, and plumbing equipment are provided.

[0052] Moreover, although one detection means used for the measurement means 6, 7, 8, and 9 and a list for every detection item and every control item with the real unit about the individual control means 22, in drawing 1, one was indicated, respectively for simplification.

[0053] The cultivation tank 1 expresses in the cross section. The culture medium 2 in which it invested in the cultivation tank 1 is agitated with the agitator 4 driven by the motor 3 for a drive, and is mixed by homogeneity. Oxygen required for culture is supplied to the aerating process in liquid and the tub up gaseous-phase section which supply oxygen content gas into liquid from the sparger 5 arranged at the bottom of the tank section by the two approaches of the top-face aerating process which carries out aeration.

[0054] In the cultivation tank 1, the measurement means 6, measurement means 7 and 8 to measure distributed gas, and the measurement means 9 are provided. The measurement values 15, such as pH, dissolved oxygen concentration, temperature, an agitating speed, culture medium turbidity, an oxygen density in exhaust gas, and carbon-dioxide-gas concentration in exhaust gas, are obtained from a measurement means 6 to measure the description of culture medium 2, a measurement means 9 to measure exhaust gas, and the motor 3 for a drive. A measurement value 15 is transmitted to the computer 23 mentioned later. Moreover, about the measurement value of pH, dissolved oxygen concentration, and temperature, it is directly transmitted also to the individual control means 22. The measurement means 7 and 8 have the function which measures the amount of supply of distributed gas and the lye for neutralization, and carries out amount-of-supply accommodation, and obtain the measurement values 17, such as each amount of supply of the total aeration, air, oxygen, nitrogen, and carbon dioxide gas, and the alkali amount of supply. Each measurement data value is transmitted to the computer 23 mentioned later.

[0055] Sampling Rhine 10 which extracts some culture medium 2 is established in the cultivation tank 1, and some culture medium can be extracted as a sample 11 for analysis in sterile during culture. Various kinds of analysis apparatus 12 are presented with a sample 11, and it acquires the analysis values 16, such as cell concentration, the rate of cell survival, glucose concentration, lactic-acid concentration, ammonia concentration, glutamine concentration, lactate dehydrogenase activity concentration, and the purpose product concentration. The analysis value 16 is inputted into a computer 23 using the input means 27.

[0056] A control unit 21 has a function for enforcing the control approach by the gestalt of operation of this invention shown in drawing 1, and possesses the individual control means 22, a computer 23, the storage means 24, the display means 25, and the alarm means 26.

[0057] The first control means which performs culture control for the purpose of the desired value to which this control unit 21 was beforehand set using the measurement value 15, The validity of said desired value is verified using a measurement value 15, a measurement value 17, and the analysis value 16. It has the second control means which verifies the validity of said



desired value as compared with this verification process, the last verification process stored in said database the result, a result, and the past culture data, changes this desired value in being required, and outputs an abnormality alarm in being required. And two steps of control which is this first and the second control means is performed.

[0058] The individual control means 22 is the first control means which performs said control of the 1st step, and three sets which make a controlled variable pH, dissolved oxygen concentration, and temperature are prepared. An actuating signal is delivered that each measurement value converges each individual control means on the control-objectives value to which the measurement value of pH transmitted directly, respectively, dissolved oxygen concentration, and temperature was set beforehand to the actuation means 28, and control action is performed autonomously. In addition, the actuation means of an individual control means 22 by which a controlled variable is pH are a carbon-dioxide-gas supply valve and a pump, and control inputs are the carbon-dioxide-gas amount of supply and an alkali injection rate, respectively.

[0059] The actuation means of an individual control means 22 by which a controlled variable is dissolved oxygen concentration are an oxygen supply valve and a nitrogen supply valve, and each actuation factor is an oxygen supply and the nitrogen amount of supply. the actuation means of an individual control means 22 by which a controlled variable is temperature -- warming -- it is the \*\* heater current controller or a steamy supply valve, and a cooling water supply valve, and an actuation factor makes a control input the amount of supply voltages or the steamy amount of supply, and the cooling water amount of supply to a heater. It does not limit especially about the individual control means 22, and the well-known feedback control technique, such as a proportional control method and a PID-control method, is used. In addition, a setup and modification of each control-objectives value can carry out by computer 23.

[0060] A computer 23 is the second control means which performs said control of the 2nd step, and performs actuation of the following \*\* - \*\*.

[0061] \*\* Calculate using a measurement value 15, a measurement value 17, and the analysis value 16, and compute calculation of a culture evaluation factor, and the forecast of several hours - several days after. The result of an operation is stored in a database.

[0062] \*\* A measurement value 15, a measurement value 17, and the analysis value 16 judge whether the result of an operation of whether it is an appropriate numeric value and \*\* is in the tolerance of the last forecast in the present culture situation. When it is in tolerance, it progresses to \*\*. When it is outside tolerance, it progresses to \*\*. A judgment result is stored in a database.

[0063] The result of an operation of \*\*\*\* judges whether it is in the tolerance of the database saved for the storage means 24. When it is in tolerance, it progresses to \*\*. When it is outside tolerance, it indicates that an abnormal condition has culture with the display means 25 and the alarm means 26, and it progresses to \*\*. A judgment result is stored in a database.

[0064] \*\* Compare a present culture situation and a present database and modification of a control-objectives value judges whether it is the need. When it judges with there being no need, it progresses to \*\*. When it judges with modification being required, it progresses to \*\*. A judgment result is stored in a database.

[0065] \*\* Calculate the material balance within a cultivation tank using the present control-objectives value, and judge whether an unsuitable environment exists in a cultivation tank about dissolved oxygen concentration, pH, temperature, shearing stress, etc. When it is judged that an unsuitable environment exists, it progresses to \*\*. When judged with there being nothing, control of return and the 2nd step is repeated to \*\*. A judgment result is stored in a database.

[0066] \*\* Determine the controlling factor which should be changed, and its control-objectives value candidate value.

[0067] \*\* Calculate the material balance within the same cultivation tank as \*\* using a control-objectives value candidate value, and judge the existence of an unsuitable environment in a cultivation tank. When it is judged that an unsuitable environment is formed, return and a new control-objectives value candidate value are determined as \*\*. When it judges with there being no unsuitable environment, it progresses to \*\*. A judgment result is stored in a database.

[0068] \*\* Change a setup of the control-objectives value of an individual control means. \*\* Repeat a series of control action of the 2nd step until the command of return and termination is issued. In addition, it faces changing desired value and completion of the actuation which checks a modification qualification person's presence to which the operation authority of desired value modification registered beforehand was given, and the actuation which checks this modification qualification person's desired value modification license is needed. The information on the modification value of a control-objectives value, the modification qualification person name of presence, and modification time amount is stored in a database.

[0069] Control of the 2nd step is started by the input of an analysis value required for the operation in the above-mentioned \*\*. Although especially the frequency of control of the 2nd step is not limited, when the candidate for culture is an animal cell, it usually performs at intervals of 1 hour - 24 hours. Moreover, when the candidate for culture is a microorganism, it usually performs at intervals of 30 minutes - 24 hours. All take into consideration the time amount which analysis of the culture medium extracted from the cultivation tank takes, and are determined suitably.

[0070] According to the culture apparatus of the gestalt of this operation, it becomes possible to cultivate verifying that desired value can be changed appropriately and the suitable culture environment for culture can be maintaining certainly corresponding to the culture situation of changing every moment, and safe and positive culture can be carried out.

[0071] That is, according to the gestalt of operation of this invention, by cultivating a living body cell, it becomes possible to maintain the environment in a cultivation tank on the suitable conditions for culture corresponding to the culture situation of changing every moment, and safe and positive culture can be carried out. Moreover, since it cultivates verifying that the suitable culture environment for culture can be maintaining certainly, verification of the safety of the useful matter produced by culture becomes easy. Furthermore, the verification in connection with the safety of the product performed subsequently becomes easy by storing in the storage means by using information of the modification time amount of desired value, an acknowledgement person, etc. as a serial culture database the measurement value of the cultivation tank in culture, the analysis value of culture medium, and as a result of verification.

[0072]

[Effect of the Invention] According to this invention, it cultivates verifying that the suitable culture environment for culture of a living body cell can be maintaining certainly, and the effectiveness that desired value can be changed appropriately if needed is done so.

---

[Translation done.]

**\* NOTICES \***

JPO and NCIP are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2.\*\*\*\* shows the word which can not be translated.

3.In the drawings, any words are not translated.

---

**DESCRIPTION OF DRAWINGS**

[Brief Description of the Drawings]

[Drawing 1] It is the block diagram showing one example of the control approach of this invention.

[Drawing 2] It is the flow Fig. showing actuation of one example of the control unit of this

invention.

[Drawing 3] It is drawing showing an example of the display in one example of the control unit of this invention.

[Drawing 4] It is the flow Fig. showing actuation of other examples of the control unit of this invention.

[Drawing 5] It is the schematic diagram showing one example of the culture apparatus of this invention which makes an animal cell applicable to culture.

[Description of Notations]

1 [ -- An agitator, 6, 7, 8, 9 / -- A measurement means, 21 / -- A control unit, 22 / -- An individual control means, 23 / -- A computer, 24 / -- A storage means, 25 / -- A display means, 26 / -- An alarm means, 27 / -- Input means. ] -- A cultivation tank, 2 -- Culture medium, 3 -- The motor for a drive, 4

---

[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号  
特開2003-235544  
(P2003-235544A)

(43) 公開日 平成15年8月26日 (2003.8.26)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 1/00		C 1 2 N 1/00	B 4 B 0 2 9
C 1 2 M 1/00		C 1 2 M 1/00	C 4 B 0 6 5

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2002-42510(P2002-42510)

(22) 出願日 平成14年2月20日 (2002.2.20)

(71) 出願人 000005108

株式会社日立製作所

東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地

(72) 発明者 芳賀 良一

茨城県日立市大みか町七丁目2番1号 株式会社日立製作所電力・電機開発研究所内

(72) 発明者 難波 勝

茨城県日立市大みか町七丁目2番1号 株式会社日立製作所電力・電機開発研究所内

(74) 代理人 100075096

弁理士 作田 康夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生体細胞の培養制御方法及び培養装置の制御装置並びに培養装置

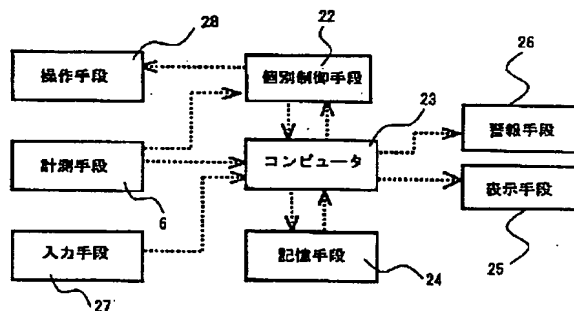
(57) 【要約】

【課題】 生体細胞の培養に適切な培養環境で必要に応じて運転状態目標値を適切に変更することにある。

【解決手段】 培養装置により生体細胞を培養する生体細胞の培養制御で、前記培養装置の運転状態を計測した計測値が予め設定された目標値に一致するように制御を行い、前記計測値と前記培養装置から採取した培養液試料を分析して得た分析値とに基づき該目標値を変更することを特徴とする。

【効果】 適切な培養環境で、必要に応じて運転状態目標値を適切に変更できる。

図 1



## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】培養装置により生体細胞を培養する生体細胞の培養制御方法であって、前記培養装置の運転状態を計測した計測値が予め設定された目標値に一致するよう制御を行う第一のステップと、

前記計測値と前記培養装置から採取した培養液試料を分析して得た分析値とに基づき該目標値を変更する第二のステップとを含む生体細胞の培養制御方法。

【請求項 2】生体の細胞を培養する培養装置の制御方法において、前記培養装置に設けた運転状態計測手段からの計測値が予め設定された目標値に一致するよう制御を行う第一のステップと、前記計測値と前記培養装置から採取した培養液試料を分析して得た分析値とを用いて前記目標値の妥当性を検証し、該目標値を変更する第二のステップの二段階により制御することを特徴とする生体細胞の培養制御方法。

【請求項 3】請求項 2 に記載の生体細胞の培養制御方法において、

前記培養装置に設けた計測手段が、培養液濁度、pH、溶存酸素濃度、温度、攪拌速度、通気量、空気供給量、酸素ガス供給量、炭酸ガス供給量、窒素ガス供給量、注入ガス中酸素濃度、排出ガス中酸素濃度、アルカリ供給量のいずれか 1 つ以上であること、培養装置から採取した培養液試料を分析して得た分析値が、細胞濃度、細胞生存率、グルコース濃度、乳酸濃度、アンモニア濃度、グルタミン濃度、目的生産物濃度のいずれか 1 つ以上であることを特徴とする生体細胞の培養制御方法。

【請求項 4】培養装置により生体細胞を培養する生体細胞の培養装置の制御装置であって、

前記培養装置の運転状態を計測した計測値が予め設定された目標値に一致するよう制御を行う第一の制御手段と、

前記計測値と前記培養装置から採取した培養液試料を分析して得た分析値とに基づき該目標値を変更する第二の制御手段とを備えた培養装置の制御装置。

【請求項 5】生体の細胞を培養する培養装置の制御装置において、

前記培養装置に設けた計測手段からの計測値を取込む手段と、該計測値を用いて予め設定された目標値に一致するよう制御を行う制御手段と、前記培養装置から採取した培養液試料を分析して得た分析値を入力する手段と、前記目標値の妥当性の検証を実施する為のコンピュータと、前記生体の細胞の培養データおよび検証過程と結果をデータベースとして格納する為の記憶手段と、検証過程と結果を表示する為の表示手段とを具備し、

前記培養装置に設けた計測手段からの計測値を用いて予め設定された目標値を目標として培養制御を行う第一の制御手段と、

前記計測値と前記分析値とを用いて前記目標値の妥当性

を検証し、該検証過程と結果、前記データベースに格納された前回の検証過程と結果および過去の培養データと比較し、前記目標値の妥当性を検証して必要な場合には該目標値を変更し、および必要な場合には異常警報を出力する第二の制御手段とを備え、該第一及び第二の制御手段で制御を行うことを特徴とする、培養装置の制御装置。

【請求項 6】請求項 5 に記載の培養装置の制御装置において、

10 前記表示手段は、過去の培養データと現在の培養データおよび将来の予想される培養経過を併せて表示するよう構成し、現在及び将来予想される培養経過が過去の培養データから外れた場合にはこれを警告するよう構成したことを特徴とする培養装置の制御装置。

【請求項 7】生体の細胞を培養する培養装置において、前記培養装置に設けた計測手段からの計測値を取込む手段と、該計測値を用いて予め設定された目標値に一致するよう制御を行う制御手段と、前記培養装置から採取した培養液試料を分析して得た分析値を入力する手段と、前記目標値の妥当性の検証を実施する為のコンピュータと、前記生体の細胞の培養データおよび検証過程と結果をデータベースとして格納する為の記憶手段と、検証過程と結果を表示する為の表示手段とを具備し、前記培養装置に設けた計測手段からの計測値を用いて予め設定された目標値を目標として培養制御を行う第一の制御手段と、

前記計測値と前記分析値とを用いて前記目標値の妥当性を検証し、該検証過程と結果、前記データベースに格納された前回の検証過程と結果および過去の培養データと比較し、前記目標値の妥当性を検証して必要な場合には該目標値を変更し、および必要な場合には異常警報を出力する第二の制御手段とを備え、該第一及び第二の制御手段の 2 段階で制御を行う制御装置を備えたことを特徴とする培養装置。

【請求項 8】請求項 7 に記載の培養装置において、前記表示手段は、過去の培養データと現在の培養データおよび将来の予想される培養経過を併せて表示するよう構成し、現在及び将来予想される培養経過が過去の培養データから外れた場合にはこれを警告する強調手段で警告するよう構成したことを特徴とする培養装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、生体細胞の培養制御方法及び培養装置の制御装置並びに培養装置に関する。

【0002】

【従来の技術】生体の細胞を培養する場合においては、培養環境、すなわち培養槽内を培養に最適な条件に維持することが求められる。このため、溶存酸素濃度、pH、温度、攪拌速度、等を至適条件に維持することが行

われている。

【0003】溶存酸素濃度を制御する方法として、特公昭60-18390号公報（特許第1552563号）がある。これは溶存酸素濃度を測定するセンサーを培養槽に設置して、その指示値に合わせて培養槽の運転条件を制御する方法である。

【0004】また、pHを制御する方法として、特開昭58-81781号公報がある。これは培養槽気相部の炭酸ガス濃度を変化させることにより培養液のpHを調節する方法である。

【0005】また、攪拌速度を制御する方法として、特開平5-30962号公報がある。これは培養槽内に培養液の粘度を測定するセンサーを設け、その指示値と回転速度から剪断応力を算出し生体の細胞を破壊するに至らない剪断応力の範囲で攪拌速度を調節する方法である。

【0006】これらの従来の手法は、予め設定した目標値を満足するよう制御するものであり、培養状況に対応して制御するものではなかった。

【0007】培養状況の異常を判定する方法として、特開平5-240673号公報がある。これは培養槽に設けた検出手段の指示値の標準値に対する相対偏位量を算出し、ファジー推論演算によって培養の正常度・異常度を計算して判定する方法である。

【0008】このような従来の手法では、予め入力した正常な培養状態での標準値をもとに培養の異常の有無を判定するものであり、刻々と変化する培養状況に的確に対応して判断を行うものではない。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】培養状況は刻々と変化する、培養初期の生体細胞の濃度が低い状況では良好に制御されていたものが、培養によって生体細胞の濃度が高まることによって目標とする培養環境を維持できない状況の発生もありうる。通常の培養装置では計測手段を多数設置することはまれであり、培養槽内に不適切な培養環境が存在していたとしてもこれを検出することができない。また、培養の進行に伴って制御目標値の変更が必須な培養もある。

【0010】本発明の目的は、生体細胞の培養に適切な培養環境が確実に維持できていることを検証しつつ培養を行い、必要に応じて目標値の変更を適切に実施することができる生体細胞の培養制御方法及び培養装置の制御装置並びに培養装置を提供することにある。

【0011】

【課題を解決するための手段】本発明は、培養装置により生体細胞を培養する生体細胞の培養制御で、前記培養装置の運転状態を計測した計測値が予め設定された目標値に一致するよう制御を行い、前記計測値と前記培養装置から採取した培養液試料を分析して得た分析値とに基づき該目標値を変更することを特徴とする。

【0012】

【発明の実施の形態】本発明の実施の形態を図面を用いて以下詳細に説明する。図1は、生体の細胞を培養する培養装置の制御方法を示すブロック図である。

【0013】本発明の実施の形態による制御方法は、培養装置により生体細胞を培養する生体細胞の培養制御で、前記培養装置の運転状態を計測した計測値が予め設定された目標値に一致するよう制御を行い、前記計測値と前記培養装置から採取した培養液試料を分析して得た分析値とに基づき該目標値を変更するものである。

【0014】個別制御手段22は、予め設定された目標値と培養槽に設けた計測手段6より得られる計測値を比較して動作信号を操作手段28に伝達して操作量を変更することにより、制御目標値にそれぞれの計測値が収束するよう自律的に制御動作を実行する第1のステップの制御を行う。

【0015】個別制御手段22としては特に限定するものではなく、pH、溶存酸素濃度および温度等を制御量とするものが用いられる。なお、培養する生体の細胞が動物細胞である場合、制御量がpHである個別制御手段22の操作手段は炭酸ガス供給弁およびポンプであり、それぞれ操作量は炭酸ガス供給量およびアルカリ注入量である。制御量が溶存酸素濃度である個別制御手段22の操作手段は酸素供給弁および窒素供給弁であり、それぞれの操作因子は酸素供給量および窒素供給量である。制御量が温度である個別制御手段22の操作手段は加温用ヒーター電流調節器または蒸気供給弁、および冷却水供給弁であり、操作因子はヒーターへの供給電力量または蒸気供給量、および冷却水供給量を操作量とする。個別制御手段22については特に限定するものではなく、比例制御法、PID制御法等の公知のフィードバック制御手法を用いれば良い。なお、それぞれの制御目標値の設定・変更がコンピュータ23によって行えることが好ましい。

【0016】コンピュータ23は、計測手段6からの計測値と入力手段27から入力される分析値とを用いて前記目標値の妥当性を検証し、記憶手段24に格納された前回の検証過程と結果および過去の培養データと比較し、前記目標値の妥当性を検証して表示手段25に表示するとともに、必要な場合には該目標値を変更し、および必要な場合には警報手段26によって異常警報を出力する第2ステップの制御を行う。コンピュータ23は下記①～④の動作を実行する。

【0017】①計測手段6からの計測値と入力手段27から入力される分析値とを用いて演算を行い、培養評価因子の算出と数時間～数日後の予測値を算出する。

【0018】②計測手段6からの計測値と入力手段27から入力される分析値とが現状の培養状況において妥当な数値であるかどうか、および①の演算結果が前回の予測値の許容範囲内にあるか否かを判定する。許容範囲内に

10

20

30

40

50

あるときは④に進む。許容範囲外であるときは③に進む。

【0019】③①の演算結果が記憶手段24に保存されたデータベースの許容範囲内にあるか否か判定する。許容範囲内にあるときは④に進む。許容範囲外であるときは表示手段25、警報手段26により培養が異常状態にあることを表示し、⑤に進む。

【0020】④現状の培養状況とデータベースとを比較し、制御目標値の変更が必要かどうか判定する。すなわち、組み替えた遺伝子の発現制御が温度やpH、溶存酸素、剪断応力によって行われる場合や発現誘導剤の添加で行われる場合に、現状の培養状況が遺伝子発現操作をすべき時期か否かを判定する。必要がないと判定した場合は⑤に進む。変更が必要と判定した場合は⑥に進む。

【0021】⑤現状の制御目標値で培養槽内での物質収支を演算し、培養槽内に不適切な環境の存在の有無を判定する。不適切な環境の存在があると判断された場合は⑥に進む。ないと判定された場合は①に戻り、第2のステップの制御を繰り返す。

【0022】⑥変更すべき制御因子とその制御目標値候補値を決定する。

【0023】⑦制御目標値候補値を用いて培養槽内での物質収支を演算し、培養槽内に不適切な環境形成の有無を判定する。不適切な環境が形成されると判断した場合は⑥に戻り、新たな制御目標値候補値を決定する。不適切な環境は形成されないと判定した場合は⑧に進む。

【0024】⑧個別制御手段の制御目標値の設定を変更する。①に戻り、終了の指令が出されるまで第2ステップの一連の制御動作を繰り返す。なお、安全性の確保の観点からは、目標値を変更するに際しては、予め登録された目標値変更の実施権限を付与された変更認定者の立会いを確認する動作と、該変更認定者の目標値変更認可を確認する動作を完了した後でなければ制御目標値の変更ができないようにすることが好ましい。

【0025】培養評価因子としては特に限定するものではないが、比増殖速度、生存率、基質消費速度、生産物生産速度、酸素消費速度、炭酸ガス生成速度、等を用い、必要に応じて他の因子を加える。培養の数時間～数日後を予測する方法としては特に限定するものではなく、過去の培養データについてpH、温度、酸素消費速度、基質濃度等の影響を多重解析法によって近似した実験式を用いて算出する方法等を用いれば良い。培養槽内での物質収支を演算する手法としては特に限定するものではなく、槽内の流れの乱流エネルギー散逸速度 $\epsilon$ を用いる乱流モデルを利用して流体力学的手法により解析する方法等を用いることができる。

【0026】以上のように、本発明の実施の形態による制御方法によれば、刻々と変化する培養状況に対応して目標値の変更を適切に実施することができ、かつ培養に適切な培養環境が確実に維持できていることを検証しつ

つ培養を行うことが可能となり、安全で確実な培養が可能となる。

【0027】図2は、本発明の実施の形態による制御装置の一実施例の動作を説明するフロー図である。制御対象の培養装置には溶存酸素濃度、pH、温度の計測手段を設置し、それぞれの計測値に基づいて予め定めた制御目標値に収束させるべく各手段毎に個別制御手段22が設けられておりそれぞれ独立した制御操作を実施する。なお、図2に記載した計測手段とは、培養装置に設置した計測手段のいずれか一つを例として示すものであって、計測手段毎に図2のフローが独立的に実行される。また、計測手段としては前記の手段に限定されるものではなく、培養液濁度等の他の手段を加えても良い。

【0028】培養開始の信号が入力されることに伴い制御が開始される。制御フローの各ステップの動作を以下に説明する。

【0029】S11：培養装置に設置した溶存酸素濃度、pH、温度の計測手段により、それぞれの計測値を得る。

【0030】S12：個別制御手段において、それぞれの計測値が予め設定された制御目標値に一致するかどうか判定する。一致する場合はS11に戻る。一致しない場合はS13に進む。

【0031】S13：S12において、制御目標値に一致していないと判断された場合には、制御目標値に収束するよう、それぞれの個別制御手段において操作手段に対して動作信号を伝達し、操作量を変更する。それぞれの個別制御手段における制御手法としては特に限定するものではなく、ON/OFF制御法、比例制御法、PID制御法等の公知の手法を用いることができる。変更後、S11に戻る。なお、各制御手段での操作量としては、下記のものが用いられる。

【0032】pH：通気ガス中の炭酸ガス供給量の増減、および酸性溶液またはアルカリ性溶液の注入量。

【0033】溶存酸素濃度：通気ガス中の酸素供給量の増減、培養液攪拌速度の増減、培養槽圧力の増減。

【0034】温度：ジャケット供給水温度の増減、冷却水供給速度の増減、加熱用電気ヒーター供給電力量の増減または加熱用蒸気供給量の増減。

【0035】動作S11～S13は、終了命令が発せられるまで反復して実行される。反復の周期は培養する生体細胞の特性、および培養装置の動特性をもとに適宜決定されるが、概ね1秒～10分の範囲で実施される。

【0036】S21：培養装置より生体細胞の培養液を無菌的に採取する。採取の手法は特に限定するものではなく、作業者が手作業で採取しても自動採取装置を用いても良い。

【0037】S22：S21で採取した培養液試料について必要な分析を行う。分析項目としては細胞濃度、細胞生存率、基質物質であるグルコースおよびグルタミン

の濃度、代謝物質である乳酸、アンモニア、乳酸脱水素酵素および目的生産物の濃度、のいずれか1つ以上を実施するのが好ましいが、特にこれらに限定するものではない。

【0038】S23：S22で得た分析値をコンピュータに入力する。

【0039】S24：S21の動作を実施する時点で、S11の計測データをコンピュータに取込む。

【0040】S25：S24で取込んだ計測データおよびS23で入力した分析データをもとに演算を行い、培養評価因子の算出と数時間～数日後の予測値を算出する。

【0041】S26：S25での解析結果をもとに、培養が正常に行われているか検証を実施する。すなわち、計測値と分析値とが現状の培養状況において妥当な数値であるかどうか、およびS25の演算結果が前回の予測値の許容範囲内にあるか否かを判定する。許容範囲内にあるときはS29に進む。許容範囲外であるときはS27に進む。

【0042】S27：S25の演算結果が過去の培養データで構成されたデータベースでの許容範囲にあるかどうかを判定する。図3は総細胞濃度と生細胞濃度についてのS25での演算結果と過去の培養データの関係を表す表示画面の一例を示す。上限値43および下限値44とて挟まれた領域が許容範囲である。本表示例では培養経過点41、および予測値42とともに許容範囲内にあることから、培養は良好に行われていると判断される。なお、許容範囲は正常に行われたと判断された過去の培養データをもとに算出する。本実施例ではデータベースの80%が含まれる領域として決定した。許容範囲内にあるときはS29に進む。許容範囲外であるときはS28に進む。

【0043】S28：現状の培養状況が異常であることを告知する異常警報を表示する。S29に進む。

【0044】S29：現状の培養状況とデータベースとを比較し、制御目標値の変更が必要かどうか判定する。必要がないと判定した場合はS30に進む。変更が必要と判定した場合はS31に進む。

【0045】S30：現状の制御目標値で培養槽内での物質収支を演算し、培養槽内に不適切な環境の有無を判定する。不適切な環境の有無があると判断された場合はS31に進む。ないと判定された場合はS21に戻り、第2ステップの制御を繰り返す。

【0046】S31：変更すべき制御因子とその制御目標値候補値を決定する。

【0047】S32：制御目標値候補値を用いて培養槽内での物質収支を演算し、培養槽内に不適切な環境形成の有無を判定する。不適切な環境が形成されると判断した場合はS31に戻り、新たな制御目標値候補値を決定する。不適切な環境は形成されないと判定した場合はS

35に進む。

【0048】S35：個別制御手段の制御目標値を上記目標値候補値に変更する。S21に戻り、終了の指令が出されるまで第2ステップの一連の制御動作を繰り返す。

【0049】本実施の形態の制御装置によれば、刻々と変化する培養状況に対応して目標値の変更を適切に実施することができ、かつ培養に適切な培養環境が確実に維持できていることを検証しつつ培養を行うことが可能となり、安全で確実な培養を実施できる。

【0050】図4は、本発明の実施の形態による制御装置の他の実施例の動作を説明するフロー図である。図5は、本発明の実施の形態による動物細胞を培養するための培養装置の1例を示す。

【0051】本培養装置は、培養槽1および制御装置21とで構成される。また、図1中には図示していないが、培養設備には不可欠である、空気、酸素、窒素および炭酸ガス等のガス供給設備、温水冷水供給設備、蒸気供給設備および給排水設備を具備している。

【0052】また、計測手段6、7、8および9、並びに個別制御手段22については、実装置では検出項目毎または制御項目毎に1つの検出手段が用いているが、図1中には簡略化の為にそれぞれ1つのみ記載した。

【0053】培養槽1は断面で表わしている。培養槽1内に張り込まれた培養液2は、駆動用モーター3により駆動される攪拌機4で攪拌され、均一に混合される。培養に必要な酸素は、酸素含有ガスを槽底部に配置されたスパーチャー5から液中に供給する液中通気法と槽上部気相部に通気する上面通気法の二つの方法により供給される。

【0054】培養槽1には、計測手段6、供給ガスを計測する計測手段7および8、計測手段9を具備している。培養液2の性状を計測する計測手段6、排気ガスを計測する計測手段9および駆動用モーター3よりpH、溶存酸素濃度、温度、攪拌速度、培養液濁度、排ガス中酸素濃度および排ガス中炭酸ガス濃度等の計測値15を得る。計測値15は後述するコンピュータ23に伝送される。また、pH、溶存酸素濃度および温度の計測値については個別制御手段22にも直接伝送される。計測手段7および8は、供給ガスおよび中和用アルカリ液の供給量を計測しかつ供給量調節機能を有しており、総通気、空気、酸素、窒素、炭酸ガスの各供給量およびアルカリ供給量等の計測値17を得る。各計測データ値は後述するコンピュータ23に伝送される。

【0055】培養槽1には、培養液2の一部を採取する試料採取ライン10を設けてあり、培養中に無菌的に培養液の一部を分析用の試料11として採取することができる。試料11は各種の分析装置12に供され、細胞濃度、細胞生存率、グルコース濃度、乳酸濃度、アンモニア濃度、グルタミン濃度、乳酸脱水素酵素活性濃度およ



び目的生産物濃度等の分析値 16 を得る。分析値 16 は入力手段 27 を用いてコンピュータ 23 に入力される。

【0056】制御装置 21 は、図 1 に示す本発明の実施の形態による制御方法を実施するための機能を有するものであり、個別制御手段 22、コンピュータ 23、記憶手段 24、表示手段 25 および警報手段 26 とを具備する。

【0057】本制御装置 21 は計測値 15 を用いて予め設定された目標値を目標として培養制御を行う第一の制御手段と、計測値 15、計測値 17 および分析値 16 とを用いて前記目標値の妥当性を検証し、該検証過程と結果、前記データベースに格納された前回の検証過程と結果および過去の培養データと比較し、前記目標値の妥当性を検証して必要な場合には該目標値を変更し、および必要な場合には異常警報を出力する第二の制御手段を備えている。そしてこの第一及び第二の制御手段である 2 段階の制御を行う。

【0058】個別制御手段 22 は前記第 1 ステップの制御を実行する第一の制御手段であり、pH、溶存酸素濃度および温度を制御量とする 3 基が設けられている。それぞれの個別制御手段は、それぞれ直接伝送される pH、溶存酸素濃度および温度の計測値が、あらかじめ設定された制御目標値にそれぞれの計測値が収束するよう操作手段 28 に動作信号を伝達し、自律的に制御動作を実行する。なお、制御量が pH である個別制御手段 22 の操作手段は炭酸ガス供給弁およびポンプであり、それぞれ操作量は炭酸ガス供給量およびアルカリ注入量である。

【0059】制御量が溶存酸素濃度である個別制御手段 22 の操作手段は酸素供給弁および窒素供給弁であり、それぞれの操作因子は酸素供給量および窒素供給量である。制御量が温度である個別制御手段 22 の操作手段は加温用ヒーター電流調節器または蒸気供給弁、および冷却水供給弁であり、操作因子はヒーターへの供給電力量または蒸気供給量、および冷却水供給量を操作量とする。個別制御手段 22 については特に限定するものではなく、比例制御法、PID 制御法等の公知のフィードバック制御手法を用いる。なお、それぞれの制御目標値の設定・変更がコンピュータ 23 によって行える。

【0060】コンピュータ 23 は前記第 2 ステップの制御を実行する第二の制御手段であり、下記①～⑧の動作を実行する。

【0061】①計測値 15、計測値 17 および分析値 16 を用いて演算を行い、培養評価因子の算出と数時間～数日後の予測値を算出する。演算結果をデータベースに格納する。

【0062】②計測値 15、計測値 17 および分析値 16 が現状の培養状況において妥当な数値であるかどうか、および①の演算結果が前回の予測値の許容範囲内にあるかどうか判定する。許容範囲内にあるときは④に進

む。許容範囲外であるときは③に進む。判定結果をデータベースに格納する。

【0063】③①の演算結果が記憶手段 24 に保存されたデータベースの許容範囲内にあるかどうか判定する。許容範囲内にあるときは④に進む。許容範囲外であるときは表示手段 25、警報手段 26 により培養が異常状態にあることを表示し、⑤に進む。判定結果をデータベースに格納する。

【0064】④現状の培養状況とデータベースとを比較し、制御目標値の変更が必要かどうか判定する。必要がないと判定した場合は⑤に進む。変更が必要と判定した場合は⑥に進む。判定結果をデータベースに格納する。

【0065】⑤現状の制御目標値を用いて培養槽内での物質収支を演算し、溶存酸素濃度、pH、温度、剪断応力、等について不適切な環境が培養槽内に存在するかどうかを判定する。不適切な環境が存在すると判断された場合は⑥に進む。ないと判定された場合は①に戻り、第 2 ステップの制御を繰り返す。判定結果をデータベースに格納する。

【0066】⑥変更すべき制御因子とその制御目標値候補値を決定する。

【0067】⑦制御目標値候補値を用いて⑤と同様な培養槽内での物質収支を演算し、培養槽内に不適切な環境の有無を判定する。不適切な環境が形成されると判断した場合は⑥に戻り、新たな制御目標値候補値を決定する。不適切な環境はないと判定した場合は⑧に進む。判定結果をデータベースに格納する。

【0068】⑧個別制御手段の制御目標値の設定を変更する。①に戻り、終了の指令が出されるまで第 2 ステップの一連の制御動作を繰り返す。なお、目標値を変更するに際しては、予め登録された目標値変更の実施権限を付与された変更認定者の立会いを確認する動作と、該変更認定者の目標値変更認可を確認する動作の完了を必要とする。制御目標値の変更値、立会いの変更認定者名、変更時間の情報をデータベースに格納する。

【0069】第 2 ステップの制御は、上記①での演算に必要な分析値の入力によって開始される。第 2 ステップの制御の頻度は特に限定するものではないが、培養対象が動物細胞である場合には通常 1 時間～24 時間の間隔で実行される。また、培養対象が微生物である場合には通常 30 分～24 時間の間隔で実行される。何れも、培養槽から採取された培養液の分析に要する時間を勘案して適宜決定される。

【0070】本実施の形態の培養装置によれば、刻々と変化する培養状況に対応して目標値の変更を適切に実施することができ、かつ培養に適切な培養環境が確実に維持できていることを検証しつつ培養を行うことが可能となり、安全で確実な培養を実施できる。

【0071】つまり、本発明の実施の形態によると、生体細胞の培養を行うことにより、刻々と変化する培養状

況に対応して培養槽内の環境を培養に好適な条件に維持することが可能となり、安全で確実な培養を実施できる。また、培養に適切な培養環境が確実に維持できていることを検証しつつ培養を行うことから、培養によって生産される有用物質の安全性の検証が容易となる。さらに、培養における培養槽の計測値、培養液の分析値、検証の結果、目標値の変更時間、承認者等の情報を時系列的培養データベースとして記憶手段に格納しておくことにより、事後に行う製品の安全性にかかわる検証が容易となる。

【0072】

【発明の効果】本発明によると、生体細胞の培養に適切な培養環境が確実に維持できていることを検証しつつ培養を行い、必要に応じて目標値の変更を適切に実施することができるという効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

\*【図1】本発明の制御方法の一実施例を示すブロック図である。

【図2】本発明の制御装置の一実施例の動作を示すフロー図である。

【図3】本発明の制御装置の一実施例における表示の一例を示す図である。

【図4】本発明の制御装置の他の実施例の動作を示すフロー図である。

【図5】動物細胞を培養対象とする本発明の培養装置の一実施例を示す概要図である。

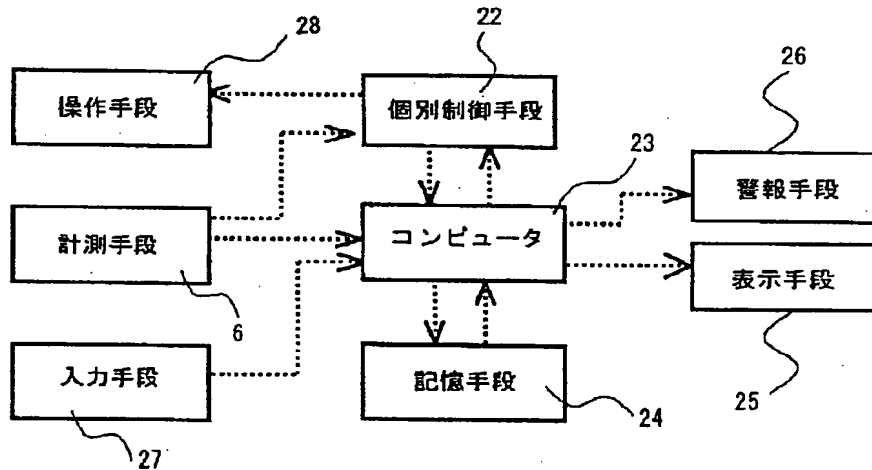
【符号の説明】

1…培養槽、2…培養液、3…駆動用モーター、4…攪拌機、6、7、8、9…計測手段、21…制御装置、22…個別制御手段、23…コンピュータ、24…記憶手段、25…表示手段、26…警報手段、27…入力手段。

\*

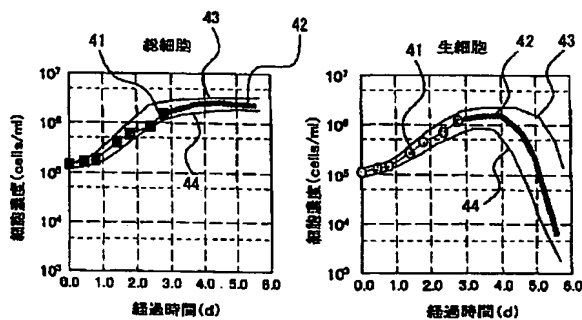
【図1】

図 1



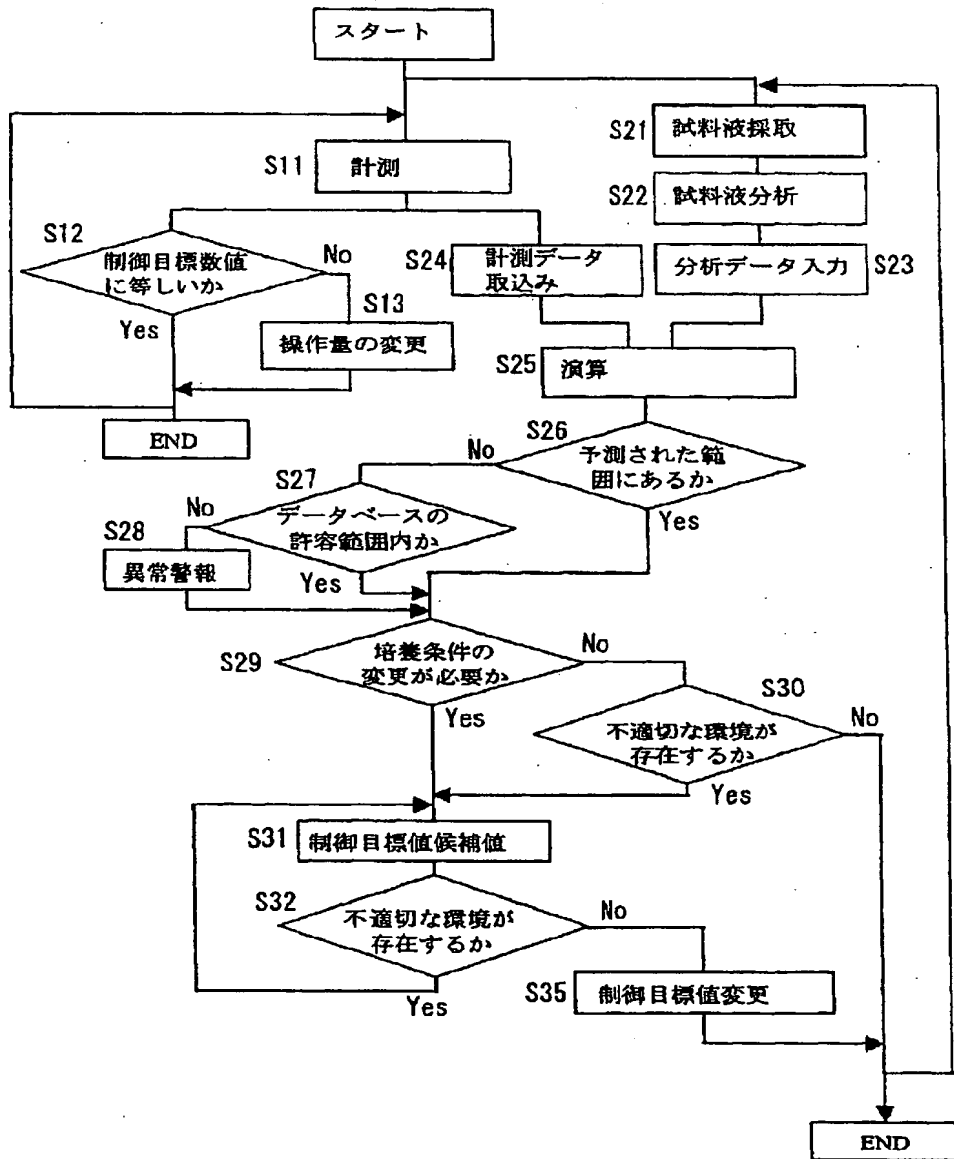
【図3】

図 3



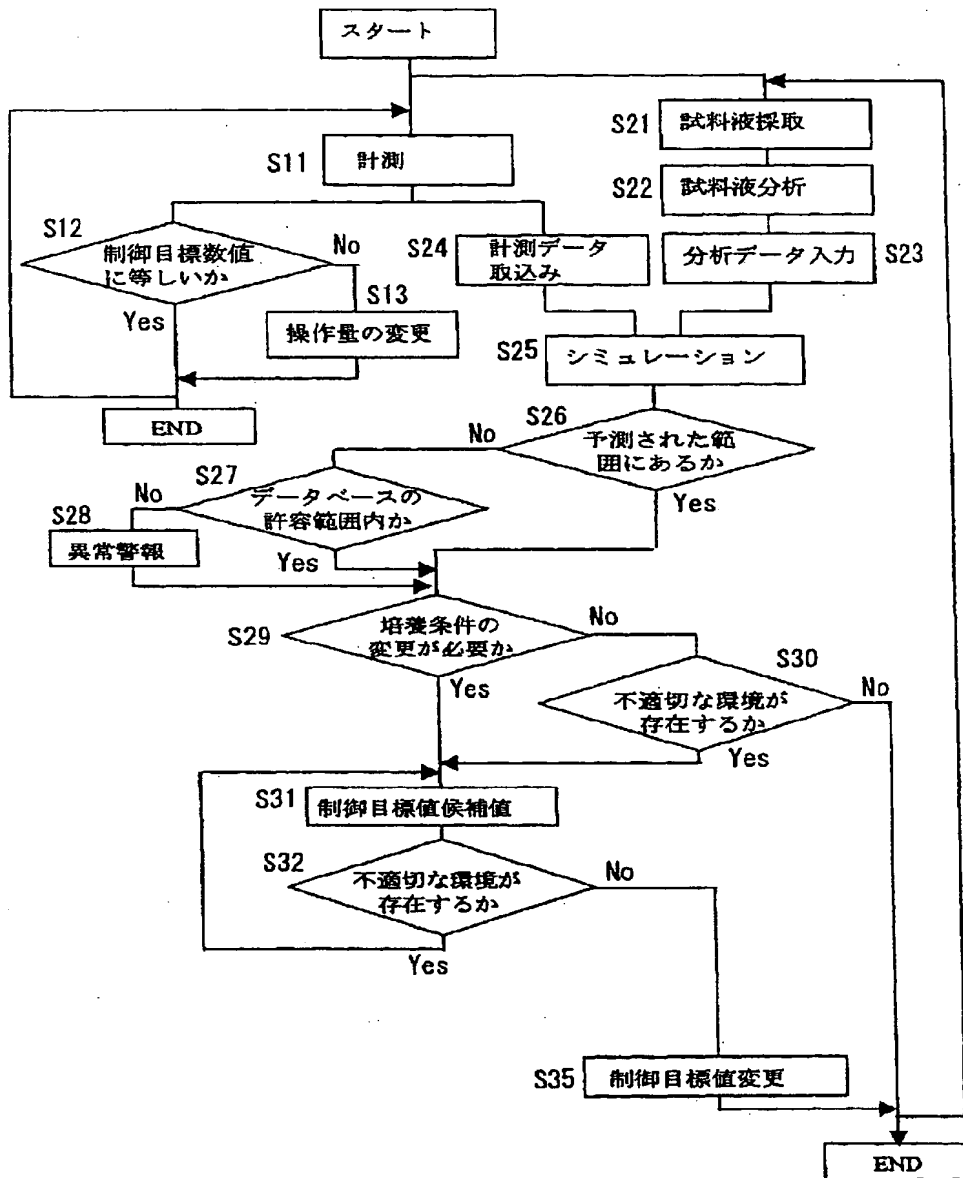
【図2】

図 2



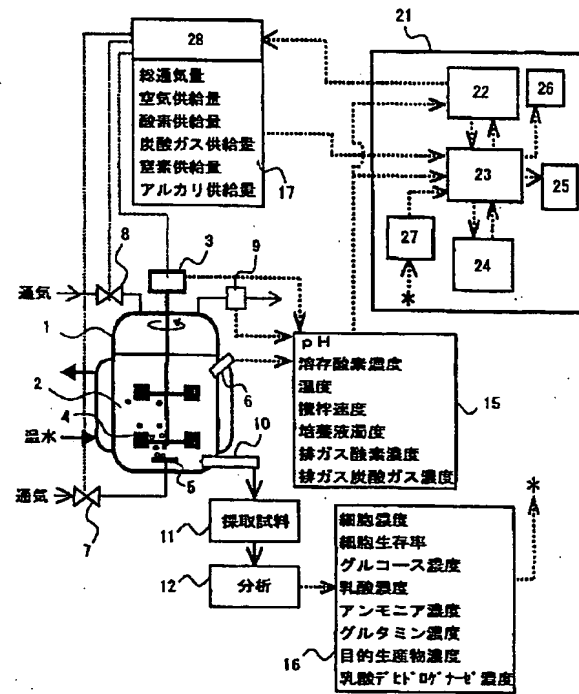
【図4】

図 4



【図5】

図 5



フロントページの続き

(72)発明者 天野 研

茨城県日立市大みか町七丁目2番1号 株  
式会社日立製作所電力・電機開発研究所内

Fターム(参考) 4B029 AA02 BB01 CC01 DA01 DF01

DF02 DF03 DF04 DF06 DF07

4B065 AA90X BC02 BC03 BC06

BC07 BC11 BC13 BC14 BC18